桦木酸对地塞米松致氧化应激小鼠血清指标的影响

朱利娟[1] 赵 静[1] 向思亭[1] 王喜红[1] 黄 琳[1] 易想炼[1] 朱若岑[1] 易金娥[1,2*] 邬 静[1*]

（1.湖南农业大学动物医学院，长沙 410128；2.湖南畜禽安全生产协同创新中心，长沙 410128）

摘 要：本试验旨在研究桦木酸（BA）对地塞米松（Dex)诱导氧化应激小鼠血清指标的影响。将 40 只健康雄性昆明小鼠随机分为 5 组，即对照（NC）组、Dex 组、0.25 mg/kg BA 组、0.50 mg/kg BA 组、1.00 mg/kg BA 组，每组 8 只。NC 组和 Dex 组灌服 1%的可溶性淀粉，其余各组灌服混悬于 1%可溶性淀粉溶液中不同剂量的 BA，连续灌服 14 d 后，除 NC 组注射生理盐水外，其余 4 组均腹腔注射 25 mg/kg Dex 诱导氧化应激模型。15 h 后，眼眶采血，收集血清。检测血清谷丙转氨酶（ALT）、谷草转氨酶（AST）和碱性磷酸酶（ALP）活性，总蛋白（TP）、白蛋白（ALB）、总胆固醇（TC）、甘油三酯（TG）、总胆红素（T-Bil）、钙离子（Ca^{2+}）、细胞色素 C（CytC）含量，总抗氧化能力（T-AOC）、抑制羟自由基能力、超氧化物歧化酶（SOD）活性、谷胱甘肽（GSH）和丙二醛（MDA）含量。结果显示：BA 预处理后，能够显著或极显著降低 Dex 诱导氧化应激小鼠血清 ALP 活性及 TG、T-Bil、CytC 含量（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），且呈量效关系；低剂量 BA(0.25、0.50 mg/kg)显著或极显著降低了血清 MDA 含量（$P<0.01$ 或 $P<0.05$），但高剂量 BA（1.00 mg/kg）反而极显著升高了其含量（$P<0.01$）；能够显著或极显著升高血清 Ca^{2+}和 GSH 含量、SOD 的活性、T-AOC 和抑制羟自由基能力（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），并呈量效关系；降低了血清 ALT 和 AST 活性，但影响不显著($P>0.05$)，对血清 TP 和 ALB 含量无显著影响($P>0.05$)。由此可见，BA 能够改善 Dex 引起的小鼠血清指标的变化，对 Dex 诱导的氧化损伤有预防性的保护作用。

关键词：桦木酸；地塞米松；氧化应激；血清指标

收稿日期：2016-10-31

基金项目：教育部高校博士学科点专项基金新教师类资助项目（20124320120011）；湖南省自然科学基金(2015JJ2077)；湖南省科技计划(2015NK3008)；湖南农业大学公派出国科研启动基金（14RCPT12）

作者简介：朱利娟（1991-），女，湖南双峰人，硕士研究生，研究方向为营养代谢与动物保健。E-mail： 920437286@qq.com

*通信作者：易金娥，教授，硕士生导师，E-mail： yibinzhen@163.com；邬 静，副教授，硕士生导师，E-mail： 12145090@qq.com

中图分类号：S816.7

地塞米松（dexamethasone,Dex)是一种长效的糖皮质激素类药物。研究认为，血浆中糖皮质激素含量升高是应激反应的重要标志，因此可将某些应激时动物体内发生变化的理化指标作为应激因子，反过来刺激动物产生应激，如注射 Dex 可作为应激源[1-2]。此外，大量的研究表明，Dex 能降低细胞的活力，促进活性氧（reactive oxygen species,ROS）的产生，抑制抗氧化酶的活性，降低骨钙素基因的表达，从而导致细胞的氧化应激和免疫抑制[3-5]。研究发现，自然界的很多天然活性物质能调控机体的氧化应激和免疫反应，保障机体细胞内外环境的稳定和生理机能正常。

桦木酸（betulinic acid,BA）属于植物源性羽扇豆烷型五环三萜类物质，广泛分布桦木科、桃金娘科、鼠李科、五加科等多种植物中，BA 具有抗肿瘤、抗微生物、抗炎、抗寄生虫、抗溃疡、免疫调节作用，抗氧化应激及抗疟等多种较强的生物活性[6-8]。本课题组前期研究发现，BA 对 Dex 所致的氧化损伤具有保护作用，这种保护作用主要通过改善机体的氧化还原体系，降低脂质过氧化作用，缓解 ROS 对线粒体膜的损伤，恢复线粒体功能[9]。进一步研究发现，BA 通过促进抗凋亡蛋白 *Bcl*-2 表达，抑制促凋亡蛋白 *Bax* 表达，降低 caspase-9 和 caspase-3 表达，从线粒体信号通路抑制 Dex 所致淋巴细胞的凋亡，从而提高机体的免疫力和抗氧化应激的能力[10]。因此，桦木酸作为免疫调节剂和抗氧化剂在动物健康养殖方面具有广阔的应用前景。BA 是否对 Dex 引起的血清指标具有改善作用，还未见报道。本试验采用腹腔注射 Dex 诱导小鼠氧化应激模型，研究 BA 对 Dex 引起的小鼠血清指标变化的影响，旨为 BA 在畜牧业中的应用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验试剂

BA，以白桦树皮（2016 年春季收集于吉林省长春市，经 60 ℃烘干后贮藏在黑暗、干燥处备用）为原料，从白桦树皮中提取桦木醇，经琼斯试剂氧化制备中间产物桦木酮酸后，用硼氢化钠还原合成桦木酸。具体按参考文献[11]制备。高效液相色谱（HPLC）法测定桦木酸纯度为 96.53%。

Dex 磷酸钠注射液（5 mg/mL,濮阳市汇元药业有限公司）；谷丙转氨酶（ALT）、谷草转氨酶（AST）、碱性磷酸酶（ALP）活性，总蛋白（TP）、白蛋白（ALB）、总胆固醇（TC）、

甘油三脂（TG）、总胆红素（T-Bil）和钙离子（Ca^{2+}）含量测定试剂盒以及 BS-200 全自动生化分析仪均为深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司产品；小鼠细胞色素 C 酶联免疫吸附测定（ELISA）试剂盒购自上海博谷生物科技有限公司；总抗氧化能力（T-AOC）、抑制羟自由基能力、超氧化物歧化酶（SOD）活性、谷胱甘肽（GSH）和丙二醛（MDA）含量测定试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 试验动物与饲粮

40 只健康雄性昆明小鼠，4 周龄，无特定病原体（SPF）级，体重为（20±2） g。饲粮为小鼠普通育成料，由湖南斯莱克景达试验动物有限公司提供，主要原料为小麦、玉米、豆油、麸皮、豆粕、鱼粉、麦芽糊精、酵母、草粉和预混料，营养水平（干物质基础）如下：粗蛋白质（CP）20.50%、粗脂肪（EE）4.62%、钙（Ca）1.23%、磷（P）0.91%、赖氨酸（Lys）1.30%、蛋氨酸+半胱氨酸（Met+Cys）0.68%。

1.3 试验方法

将 40 只健康雄性昆明小鼠置于室温[（22~25） ℃]，相对湿度为 50%~70%的动物饲养室，饲养 1 周后，小鼠随机分为 5 组，即对照（normal control,NC）组、Dex 组、0.25 mg/kg BA 组、0.50 mg/kg BA 组、1.00 mg/kg BA 组，每组 8 只。

取设定剂量的 BA 混悬于 1%的可溶性淀粉溶液中，按 0.01 mL/g BW 给低、中、高剂量 BA+Dex 组小鼠灌胃，NC 组和 Dex 组小鼠灌服 1%可溶性淀粉溶液，每天 09：00 给药 1 次，连续 14 d。第 14 天 17：00 0.25 mg/kg BA 组、0.50 mg/kg BA 组、1.00 mg/kg BA 组和 Dex 组小鼠腹腔注射 Dex，诱导氧化应激模型，NC 组小鼠腹腔注射生理盐水。

禁食 15 h（自由饮水）后，眼眶采血扑杀，收集血液，室温静置 2 h，3 000 r/min 离心 10 min，收集血清。

用全自动生化分析仪检测血清中 ALP、ALT、AST 活性，TP、ALB、TC、TG、T-Bil 和 Ca^{2+}含量；用 ELISA 试剂盒检测血清 CytC 含量；血清 T-AOC 采用化学比色法测定；血清抑制羟自由基能力采用 Fenton 反应法测定；血清 SOD 活性采用黄嘌呤氧化酶法测定；血清 GSH 含量采用二硫代二硝基苯甲酸法测定；血清 MDA 含量采用硫代巴比妥酸显色法测定。

1.4 数据分析与处理

采用 SPSS 17.0 软件对统计数据，采用单因素方差法分析数据，两两比较采用 q 检验，结果以平均值±标准差表示，P＜0.05 为差异显著。

2 结 果

2.1 BA 对小鼠体重的影响

在连续灌胃 BA 14 d 中，小鼠未出现任何异常反应及死亡现象。BA 对小鼠体重的影响见表 1，各组小鼠体重无显著的差异（P>0.05）。

表 1 BA 对小鼠体重的影响

Table 1 Effects of BA on body weight of mice g

项目 Item	组别 Groups				
	NC	Dex	0.25 mg/kg BA	0.50 mg/kg BA	1.00 mg/kg BA
体重 Body weight	37.21±2.19	36.57±3.26	36.59±1.90	35.11±1.42	35.96±2.12

肩标“a”表示与 NC 组差异显著（P<0.05），“b”表示与 NC 组差异极显著（P<0.01）；肩标“c”表示与 Dex 组差异显著（P<0.05），“d”表示与 Dex 组差异极显著（P<0.01）。下表同。

Compared with NC group, the superscript of “a” indicated significant difference (P<0.05), and the superscript of “b” indicated significant difference （P<0.01）; compared with Dex group, the superscript of “c” indicated significant difference (P<0.05), and the superscript of “d” indicated significant difference （P<0.01）. The same as below.

2.2 BA 对血清酶活性的影响

BA 对血清酶活性的影响见表 2，与 NC 组相比，Dex 组血清 ALT 和 AST 活性极显著升高（P<0.01），血清 ALP 活性也升高，但差异不显著（P>0.05）。与 Dex 组相比，各 BA 剂量组血清 ALP 的活性极显著降低（P<0.01），且呈量效关系；与 Dex 组相比，各 BA 剂量组血清 ALT 和 AST 的活性降低，但差异不显著（P>0.05）。

表 2 BA 对小鼠血清酶活性的影响

Table 2 Effects of BA on serum enzyme activities of mice U/L

项目 Items	组别 Groups				
	NC	Dex	0.25 mg/kg BA	0.50 mg/kg BA	1.00 mg/kg BA
碱性磷酸酶 ALP	128.98±23.67	142.86±10.41	107.18±16.18^{d}	102.92±26.62^{d}	102.66±14.45^{d}
谷丙转氨酶 ALT	52.90±3.38	70.10±5.90^{b}	67.44±8.85	64.18±5.69	69.36±6.16
谷草转氨酶 AST	157.58±10.22	222.58±36.32^{b}	239.46±33.5	210.28±26.71	200.38±20.30

2.3 BA 对血清 TC 和 TG 含量的影响

BA 对血清 TC 和 TG 含量的影响见表 3，与 NC 组相比，Dex 组的血清 TC 和 TG 的含量均极显著升高（$P<0.01$）。与 Dex 组相比，0.50 mg/kg BA 组、1.00 mg/kg BA 组血清 TG 含量极显著下降（$P<0.01$）；0.50 mg/kg BA 组血清 TC 的含量极显著降低（$P<0.01$）。

表 3　BA 对小鼠血清 TC 和 TG 含量的影响

Table 3　Effects of BA on serum TC and TG contents of mice　　mmol/L

项目 Items	组别 Groups				
	NC	Dex	0.25 mg/kg BA	0.50 mg/kg BA	1.00 mg/kg BA
总胆固醇 TC	3.79±0.37	5.67±0.79^{b}	4.94±0.64	4.14±0.51^{d}	4.79±0.91
甘油三酯 TG	3.04±0.61	5.58±0.37^{b}	4.87±0.75	4.38±0.85^{d}	3.57±0.52^{d}

2.4　BA 对血清 TP 和 ALB 含量的影响

BA 对血清 TP 和 ALB 含量的影响见表 4，与 NC 组相比，Dex 组的血清 TP 和 ALB 含量的含量均显著或极显著升高（$P<0.05$ 或 $P<0.01$）。与 Dex 组相比，各 BA 剂量组血清 TP 和 ALB 含量无显著差异（$P>0.05$）。

表 4　BA 对小鼠血清 TP 和 ALB 含量的影响

Table 4　Effects of BA on serum TP and ALB contents of mice　　g/L

项目 Items	组别 Groups				
	NC	Dex	0.25 mg/kg BA	0.50 mg/kg BA	1.00 mg/kg BA
总蛋白 TP	64.30±5.05	80.51±6.67^{b}	83.39±2.02	77.21±6.26	79.59±4.75
白蛋白 ALB	37.61±2.44	42.00±5.42^{a}	44.80±2.17	42.86±2.85	43.38±2.87

2.5　BA 对血清 T-Bil、Ca^{2+}和 CytC 含量的影响

BA 对血清 T-Bil、Ca^{2+}和 CytC 含量的影响见表 5，与 NC 组相比，Dex 组血清中 T-Bil 和 CytC 含量极显著升高（$P<0.01$）。与 Dex 组相比，0.50 mg/kg BA 组和 1.00 mg/kg BA 组血清中 T-Bil 含量显著或极显著降低（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），各 BA 剂量组血清 CytC 含量显著或极显著降低（$P<0.05$ 或 $P<0.01$）。与 NC 组相比，Dex 组的血清 Ca^{2+}含量降低；与 Dex 组相比，0.50 mg/kg BA 组和 1.00 mg/kg BA 组血清中 Ca^{2+}含量显著或极显著升高（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），且呈量效关系。

表 5　BA 对小鼠血清 T-Bil、Ca^{2+}和 CytC 含量的影响

Table 5　Effects of BA on serum T-Bil, $Ca^{2+}$and CytC contents of mice

项目 Items	组别 Groups				
	NC	Dex	0.25 mg/kg BA	0.50 mg/kg BA	1.00 mg/kg BA
总胆红素 T-Bil/(μmol/L)	8.93±2.43	25.61±6.75^{b}	24.33±4.48	19.38±0.97^{c}	16.22±2.32^{d}

钙离子 Ca^{2+}/(mmol/L)	2.02±0.23	1.87±0.15	2.09±0.11	2.13±0.24^{c}	2.24±0.20^{d}
细胞色素 C CytC/(ng/mL)	3.41±0.49	6.86±1.36^{b}	3.17±0.45^{c}	2.84±0.73^{c}	2.11±0.78^{d}

2.6　BA 对血清抗氧化能力的影响

BA 对血清抗氧化能力的影响见表 6。与 NC 组相比，Dex 组血清抑制羟自由基能力和 GSH 含量显著或极显著降低（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），MDA 的含量极显著升高（$P<0.01$），T-AOC 和 SOD 活性有所下降，但差异不显著（$P>0.05$）。与 Dex 组相比，各 BA 剂量组血清 T-AOC、抑制羟自由基能力、GSH 含量显著或极显著升高（$P<0.05$ 或 $P<0.01$）；0.50 mg/kg BA 组和 1.00 mg/kg BA 组血清 SOD 活性显著升高（$P<0.05$）；0.25 mg/kg BA 组和 0.50 mg/kg BA 组血清 MDA 含量显著或极显著下降（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），但 1.00 mg/kg BA 组反而极显著上升（$P<0.01$）。

表 6　BA 对小鼠血清抗氧化能力的影响

Table 6　Effects of BA on serum antioxidant capacity of mice

项目 Items	组别 Groups				
	NC	Dex	0.25 mg/kg BA	0.50 mg/kg BA	1.00 mg/kg BA
总抗氧化能力 T-AOC/(U/mL)	5.73±0.87	5.30±0.58	6.94±1.56^{d}	11.20±1.68^{d}	11.91±1.46^{d}
抑制羟自由基能力 Inhabitation capacity of hydroxyl free radical/(U/mL)	1 046.69±116.55	565.66±123.90^{b}	956.82±166.67^{d}	949.53±216.92^{d}	1 116.82±112.70^{d}
超氧化物歧化酶 SOD/(U/mL)	282.34±36.04	255.28±31.36	260.05±21.68	296.42±21.45^{c}	293.80±16.83^{c}
谷胱甘肽 GSH/(mg/L)	15.01±6.65	7.50±2.76^{a}	9.62±3.85	7.51±2.47	23.63±5.13^{d}
丙二醛 MDA/(nmol/mL)	8.38±2.03	13.63±2.55^{b}	8.48±0.59^{d}	11.22±1.69^{c}	24.54±2.43^{d}

3　讨　论

3.1　BA 对血清酶活性的影响

Dex 是一种人工合成的长效的糖皮质激素，有很强的抗炎、抗过敏、抗毒素和抗休克作用，是临床上最常用的皮质激素治疗药物之一。有关研究表明,Dex 超生理剂量或长期使用会造成肝脏的损伤[12-14]。ALT、AST 和 ALP 是常用于检测肝脏损伤的指标。在作者前期的研究中，发现 BA 具有抗氧化损伤的能力，并且对酒精性肝损伤有预防性保护作用[15-17]，另据报道，BA 通过上调 *Bcl*-2 表达和抗氧化功能对 *D*-氨基半乳糖联合内毒素引起的急性肝衰竭有保护作用[18]。本试验结果显示，用 Dex 造模后血清 AST 和 ALT 活性极显著升高，血

清 ALP 活性有所升高，说明 Dex 成功诱导氧化应激模型；在氧化应激的状态下，小鼠的肝脏受到了损伤，用 BA 预处理后，发现血清 AST、ALT 和 ALP 活性下降，说明 BA 对 Dex 诱导的肝损伤有一定的保护作用。

3.2　BA 对血清 TC 和 TG 含量的影响

糖皮质激素能够促进脂肪的分解，抑制脂肪的合成，从而使 TC 和 TG 的含量升高。研究发现，BA 能通过调节脂肪和糖类的代谢，具有抗肥胖的作用[19]。作者前期研究发现，BA 预处理后，通过降低血清中 TC 和 TG 的含量，肝组织 MDA 含量，增强 SOD、CAT 以及谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）活性，来保护酒精诱导的肝损伤，并且这种保护作用可能与 BA 自身的抗氧化性有关[16]。本试验中，用 Dex 预处理后，血清中 TC 和 TG 的含量极显著升高，用 BA 处理后，能够极显著降低血清 TG 含量，并呈剂量依赖，血清 TC 含量在 0.50 mg/kg BA 组极显著下降，说明 BA 对 Dex 引起的脂质代谢异常具有保护作用。

3.3　BA 对血清 TP 和 ALB 含量的影响

Dex 能促进蛋白质的分解，抑制蛋白质的合成。夏伟等[16]报道，BA 能显著升高由酒精性肝损伤引起的血清 TP 和 ALB 含量的下降。另据研究报道，BA 通过减少肺脏和血浆中氧化剂的水平和升高抗氧化剂的水平，减弱急性肠穿孔引起的氧化性肺脏损伤，并对氧化性急性肺脏损伤败血病具有治疗作用[20]。但在本试验的中，Dex 显著升高了血清 TP 和 ALB 的含量，这可能是腹腔注射 Dex 后，机体的一种代偿作用，动员机体组织的蛋白质进入血液，导致其血清含量升高。这与贺绍君等[21]研究 Dex 对肉鸡血清 TP 和 ALB 含量的影响是一致的。本试验中，用 BA 预处理后，血清 TP 和 ALB 含量的变化不显著，说明 BA 对 Dex 诱导的氧化损伤的蛋白质的代谢影响不大。

3.4　BA 对血清 T-Bil、Ca^{2+}和 CytC 含量的影响

肝在胆红素代谢中具有摄取、结合和排泄功能，其中任何一种功能障碍，均可引起黄疸。T-Bil 的检查情况能反映肝脏损害的程度。本试验中，用 Dex 处理后，血清 T-Bil 含量极显著升高，用 BA 预处理能极显著降低血清 T-Bil 含量，且呈量效关系，说明 BA 对 Dex 诱导的肝损伤具有保护作用。糖皮质激素可以减少小肠和肾小管对 Ca^{2+}的吸收，因而可促进尿钙排泄，出现低血钙，引起水肿、骨质疏松。Park 等[22]报道，BA 具有防止骨损失患者的骨转移和癌症治疗引起的雌激素缺乏的潜力。本试验发现，小鼠腹腔注射 Dex，血清 Ca^{2+}含量

有所下降，而用 BA 预先处理后，小鼠血清 Ca^{2+}含量呈剂量依赖式升高，特别是在 1.00 mg/kg BA 组，血清 Ca^{2+}含量极显著升高。这说明 BA 能避免 Dex 引起的低血钙，增强对 Ca^{2+}的吸收。CytC 和细胞凋亡有着密切的关系，Renz 等[23]认为，CytC 不仅能进入细胞质诱导凋亡，也可以由凋亡细胞释放到细胞外，检测血清 CytC 含量可以作为检测细胞凋亡的一个指标。本试验中，用 BA 预处理后，小鼠血清 CytC 含量下降，且呈量效关系。这与作者前期发现 BA 能从线粒体信号通路抑制 Dex 所致淋巴细胞的凋亡，从而提高机体的免疫力和抗氧化应激的能力[10]的结果是一致的。说明 BA 能缓解 Dex 诱导的细胞凋亡。

3.5 BA 对血清抗氧化能力的影响

BA 是一种植物源性的免疫调节剂和抗氧化剂。在作者前期进行体内试验中发现，BA 能有效增强小鼠免疫器官抗氧化能力[24]。并且，BA 能加速细胞清除 ROS 自由基，对 Dex 诱导的氧化损伤有一定的保护作用，此外 BA 能通过改善肝脏组织中的氧化还原体系，维护抗氧化体系，降低脂质过氧化作用，对酒精诱导肝损伤有预防性的保护作用[3,16]。本试验结果与此相似，本试验中，注射 Dex 能使血清抗氧化酶体系能力（如抑制羟自由基能力、GSH 含量）大大降低，血清 MDA 含量升高，用 BA 预处理，能使血清抗氧化酶体系能力增强（如 T-AOC、抑制羟自由基能力、SOD 活性、GSH 含量），血清 MDA 含量在 BA 低中剂量时极显著下降，值得注意的是 BA 在高剂量时血清 MDA 含量极显著升高，这有可能是 BA 的剂量过高对脂质过氧化起到了相反的作用。

4 结 论

BA 缓解了 Dex 引起小鼠血清生化指标、抗氧化能力和 CytC 含量的变化，说明 BA 对 Dex 诱导的氧化损伤有预防性的保护作用。

参考文献：

[1] GAO J,LIN H,WANG X J,et al.Vitamin E supplementation alleviates the oxidative stress induced by dexamethasone treatment and improves meat quality in broiler chickens[J].Poultry Science,2010,89(2):318–327.

[2] 武书庚.肉仔鸡氧化应激模型的研究[D].博士学位论文.北京:中国农业科学院,2007:16–19.

[3] 朱若岑,夏伟,谭柱良,等.桦木酸对 Dex 致小鼠氧化损伤的保护作用[J].中国兽医学报,2016,36(2):305–309.

[4] 尚国伟,孙京涛,刘宏建,等.富勒醇拮抗地塞米松诱导的骨髓间质干细胞氧化应激和成脂分化[J].中华实验外科杂志,2014,31(1):132–134.

[5] 司秀莲,李维祖,李卫平,等.地塞米松诱导 PC12 细胞氧化应激损伤及对 NOX2 表达的影响[J].安徽医科大学学报,2012,47(12):1423–1426.

[6] CICHEWICZ R H,KOUZI S A.Chemistry,biological activity,and chemotherapeutic potential of betulinic acid for the prevention and treatment of cancer and HIV infection[J].Medicinal Research Reviews,2004,24(1):90–114.

[7] ALAKURTTI S,MÄKELÄ T,KOSKIMIES S,et al.Pharmacological properties of the ubiquitous natural product betulin[J].European Journal of Pharmaceutical Sciences,2006,29(1):1–13.

[8] 易金娥,邬静,文利新,等.桦木酸的药理作用研究进展[J].中草药,2014,45(14):2118–2124.

[9] YI J E,ZHU R C,WU J P,et al.*In vivo* protective effect of betulinic acid on dexamethasone induced thymocyte apoptosis by reducing oxidative stress[J].Pharmacological Reports,2016,68(1):95–100.

[10] YI J E,ZHU R C,WU J,et al.Ameliorative effect of betulinic acid on oxidative damage and apoptosis in the splenocytes of dexamethasone treated mice[J].International Immunopharmacology,2015,27(1):85–94.

[11] 易金娥,文利新,袁莉芸,等.白桦树中桦木醇的提取与桦木酸合成研究[J].湖南农业大学学报:自然科学版,2010,36(3):574–580.

[12] 王贵民,王忠毅,谭毓铨.地塞米松对单层培养的大鼠肝细胞分泌机能的影响[J].中华肝胆外科杂志,2003,9(8):495–498.

[13] 吕嵘,白卫兵,王生奎.地塞米松对兔肝脏组织形态结构的影响[J].动物医学进展,2010,31(2):56–59.

[14] 杨错,刘玉兰,张红梅.肝细胞损伤机制及防治药物研究进展[J].实用药物与临床,2005,8(6):44–46.

[15] 易金娥,OBMINSKA-MRUKOWICZ B,杜金艳,等.桦木酸对巨噬细胞免疫功能和抗氧化作用的研究[J].营养学报,2010,32(3):281–285.

[16] 夏伟,朱若岑,蒋维维,等.桦木酸对小鼠酒精性肝损伤的保护作用[J].营养学报,2015,37(1):68–72.

[17] YI J E,XIA W,WU J P,et al.Betulinic acid prevents alcohol-induced liver damage by improving the antioxidant system in mice[J].Journal of Veterinary Science,2014,15(1):141–148.

[18] ZHENG Z W,SONG S Z,WU Y L,et al.Betulinic acid prevention of *d*-galactosamine/lipopolysaccharide liver toxicity is triggered by activation of Bcl-2 and antioxidant mechanisms[J].Journal of Pharmacy and Pharmacology,2011,63(4):572–578.

[19] DE MELO C L,QUEIROZ M G R,FILHO A C V A,et al.Betulinic acid,a natural pentacyclic triterpenoid,prevents abdominal fat accumulation in mice fed a high-fat diet[J].Journal of Agricultural and Food Chemistry,2009,57(19):8776–8781.

[20] LINGARAJU M C,PATHAK N N,BEGUM J,et al.Betulinic acid negates oxidative lung injury in surgical sepsis model[J].Journal of Surgical Research,2015,193(2):856–867.

[21] 贺绍君,刘德义,李静,等.地塞米松对生长后期AA肉鸡生化指标的影响[J].中国兽医杂志,2013,49(10):25–27,31.

[22] PARK S Y,KIM H J,KIM K R,et al.Betulinic acid,a bioactive pentacyclic triterpenoid,inhibits skeletal-related events induced by breast cancer bone metastases and treatment[J].Toxicology and Applied Pharmacology,2014,275(2):152–162.

[23] RENZ A,BERDEL W E,KREUTER M,et al.Rapid extracellular release of cytochrome c is specific for apoptosis and marks cell death *in vivo*[J].Blood,2001,98(5):1442–1548.

[24] 易金娥,屠迪,邬静,等.桦木酸对小鼠免疫器官抗氧化能力的影响[J].动物营养学报,2012,24(4):786–790.

Effects of Betulinic Acid on Serum Parameters of Oxidative Stressed Mice Induced by Dexamethasone

ZHU Lijuan[1] ZHAO Jing[1] XIANG Siting[1] WANG Xihong[1] HUANG Lin[1] YI Xianglian[1] ZHU Ruocen[1] YI Jin ʻe[1,2*] WU Jing[1*]

(1. *College of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha* 410128, *China*; 2.

Hunan Co-Innovation Center of Animal Production Safety, Changsha 410128, *China*)

Abstract: The objective of this research is to evaluate the effects of betulinic acid (BA) on serum parameters of oxidative stressed mice induced by dexamethasone (Dex). Forty male *Kunming* mice were randomly divided into 5 groups: control （NC） group, Dex group, 0.25 mg/kg BA group, 0.50 mg/kg BA group and 1.00 mg/kg BA group, each group had 8 mice. Mice in control group and Dex group were orally administered 1% starch solution and the other groups were orally administered different doses of BA for 14 days. Except NC group, mice in the other groups were intraperitoneal injected Dex at dosage of 25 mg/kg to set up oxidative damage model. After 15 hours, blood was collected from eyes to prepare serum. The activities of alkaline phosphatase (ALP), alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST), the contents of total protein (TP), albumin (ALB), total cholesterol (TC), triglyceride (TG) and total bilirubin (T-Bil), calcium ions (Ca^{2+}) and cytochrome c (CytC), total antioxidant capacity (T-AOC), inhabitation capacity of hydroxyl free radical, superoxide dismutase (SOD) activity, and the contents of glutathione(GSH) and malondialdehyde (MDA) were determinated. The results showed as follows: BA pretreatment could significantly reduce serum activity of ALP and contents of TG, T-Bil and CytC of oxidantive stressed mice ($P<0.01$ or $P<0.05$), and the effects were dose depended; BA pretreatment could significantly decrease serum content of MDA in low dose (0.25 and 0.50 mg/kg) BA groups ($P<0.05$ or $P<0.01$), while could significantly increase the content in high dose (1.00 mg/kg) BA group ($P<0.01$); BA pretreatment could significantly increase serum Ca^{2+} and GSH contents, SOD activity, T-AOC and inhibition capacity of hydroxyl free radical ($P<0.05$ or $P<0.01$), and the effects were dose depended; BA pretreatment could decrease serum ALT and AST activities, but the effects were not significant ($P>0.05$), and serum contents of TP and ALB were not significantly changed ($P>0.05$). The results suggest that BA can effectively improve serum parameters of mice and shows preventive protection of oxidative stress induced by Dex.

Key words: betulinic acid; dexamethasone; oxidative stress; blood parameters[2]

*Corresponding authors: YI Jin’e, professor, E-mail: yibinzhen@163.com; WU Jing, associate professor, E-mail: 12145090@qq.com　（责任编辑 王智航）